

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 10101671
PUBLICATION DATE : 21-04-98

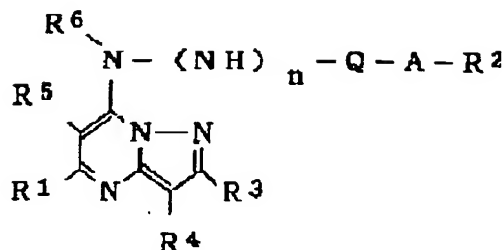
APPLICATION DATE : 01-08-97
APPLICATION NUMBER : 09207867

APPLICANT : OTSUKA PHARMACEUT FACTORY
INC;

INVENTOR : YASUDA TSUNEO;

INT.CL. : C07D487/04 A61K 31/505 A61K 31/505

TITLE : NITROGEN MONOXIDE SYNTHASE
INHIBITOR



ABSTRACT : PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject inhibitor useful as an endotoxin shock remedy or a preventive/therapeutic agent for septicemia, containing a pyrazolo[1,5-alpyrimidine derivative as active ingredient in combination with a support.

SOLUTION: This nitrogen monoxide synthase inhibitor contains, as active ingredient, a pyrazolo[1,5-alpyrimidine derivative of the formula [R_1 is H, a (substituted) lower alkyl, cycloalkyl, (substituted) phenyl, etc.; R^2 is naphthyl, a cycloalkyl, furyl, etc.; R^3 is H, phenyl or a lower alkyl; R^4 is H, a lower alkyl, (substituted) phenyl, etc.; R^5 is H or a lower alkyl; R^6 is H, a lower alkyl, etc.; Q is carbonyl or sulfonyl; A is a single bond, lower alkylene, etc.; (n) is 0 or 1], in combination with a nontoxic support. The daily dose of this inhibitor is 0.5-20mg/kg. body weight. The compound of the formula is e.g. 5-n-butyl-7-(3,4,5-trimethoxybenzoylamino) pyrazolo[1,5-a]pyrimidine.

COPYRIGHT: (C)1998,JPO

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-101671

(43) 公開日 平成10年(1998) 4月21日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I	
C 0 7 D 487/04	1 4 2	C 0 7 D 487/04	1 4 2
A 6 1 K 31/505	A E D	A 6 1 K 31/505	A E D
	A G Z		A G Z

審査請求 未請求 請求項の数9 O L (全 25 頁)

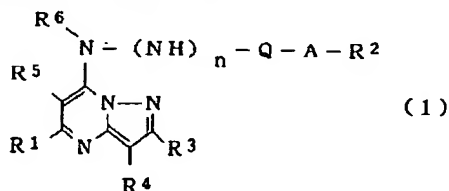
(21) 出願番号	特願平9-207867	(71) 出願人	000149435 株式会社大塚製薬工場 徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原115
(22) 出願日	平成9年(1997) 8月1日	(72) 発明者	守時 英喜 徳島県徳島市北矢三町4丁目8-7-8
(31) 優先権主張番号	特願平8-209465	(72) 発明者	岩本 武史 徳島県小松島市田浦町近里83-1 ケント パレス徳島南606号
(32) 優先日	平8(1996) 8月8日	(72) 発明者	安田 恒雄 徳島県鳴門市撫養町弁財天宇ハマ43
(33) 優先権主張国	日本 (J P)	(74) 代理人	弁理士 三枝 英二 (外10名)

(54) 【発明の名称】 一酸化窒素合成酵素阻害剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 一酸化窒素合成酵素阻害剤を提供する。

【解決手段】 一般式(1)

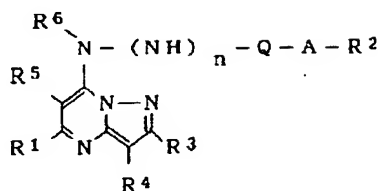


〔R¹は水素原子、置換基又は無置換の低級アルキル基、シクロアルキル基など、R²はナフチル基、シクロアルキル基、フリル基、チエニル基など、R³は水素原子、フェニル基又は低級アルキル基、R⁴は水素原子、低級アルキル基、低級アルコキシカルボニル基、フェニル低級アルキル基など、R⁵は水素原子又は低級アルキル基、R⁶は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基又は置換ベンゾイル基を示し、R¹及びR⁵は互いに結合して低級アルキレン基を形成してもよく、Qはカルボニル基又はスルホニル基、Aは単結合、低級アルキレン基又は低級アルケニレン基、nは0又は1を示す〕のピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン誘導体を有効成分とする一酸化窒素合成酵素阻害剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式

【化1】



〔式中、 R^1 は水素原子、置換基としてチエニル基、低級アルコキシ基、低級アルキルチオ基、オキシ基又はヒドロキシル基を有することのある低級アルキル基、シクロアルキル基、チエニル基、フリル基、低級アルケニル基又は置換基として低級アルキル基、低級アルコキシ基、フェニルチオ基及びハロゲン原子から選ばれる基の1～3個を有することのあるフェニル基を、 R^2 はナフチル基、シクロアルキル基、フリル基、チエニル基、ハロゲン原子で置換されることのあるピリジル基、ハロゲン原子で置換されることのあるフェノキシ基又は置換基として低級アルキル基、低級アルコキシ基、ハロゲン原子、ニトロ基、ハロゲン置換低級アルキル基、ハロゲン置換低級アルコキシ基、低級アルコキシカルボニル基、ヒドロキシル基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、シアノ基、低級アルカノイルオキシ基、フェニル基及びジ低級アルコキシホスホリル低級アルキル基から選ばれる基の1～3個を有することのあるフェニル基を、 R^3 は水素原子、フェニル基又は低級アルキル基を、 R^4 は水素原子、低級アルキル基、低級アルコキシカルボニル基、フェニル低級アルキル基、置換基としてフェニルチオ基を有することのあるフェニル基又はハロゲン原子を、 R^5 は水素原子又は低級アルキル基を、 R^6 は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基又は置換基として低級アルコキシ基、ハロゲン置換低級アルキル基及びハロゲン原子から選ばれる基の1～3個を有するベンゾイル基を示し、また R^1 及び R^5 は互いに結合して低級アルキレン基を形成してもよく、Qはカルボニル基又はスルホニル基を、Aは単結合、低級アルキレン基又は低級アルケニレン基をそれぞれ示し、nは0又は1を示す。〕で表わされるピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン誘導体を有効成分として、その有効量を、無毒性担体と共に含有することを特徴とする一酸化窒素合成酵素阻害剤。

【請求項2】 有効成分が、請求項1に記載の一般式中、 R^5 及び R^6 がそれぞれ水素原子で、Qがカルボニル基で、Aが単結合で、nが0である化合物である請求項1に記載の一酸化窒素合成酵素阻害剤。

【請求項3】 有効成分が、請求項1に記載の一般式中、 R^1 がフェニル基又は置換基としてヒドロキシル基又は低級アルコキシ基を有することのある低級アルキル基で、 R^2 が置換基として低級アルコキシ基、ハロゲン

置換低級アルキル基及びハロゲン原子から選ばれる基の1～3個を有するフェニル基で、 R^4 が水素原子又はフェニル基である化合物である請求項2に記載の一酸化窒素合成酵素阻害剤。

【請求項4】 有効成分が、請求項1に記載の一般式中、 R^1 がフェニル基、メチル基、エチル基、n-ブチル基又はn-ペンチル基で、 R^2 が4-エトキシ-3, 5-ジメトキシフェニル基、3, 4, 5-トリメトキシフェニル基、2-メトキシフェニル基、2, 4-ジクロロフェニル基又は2-トリフルオロメチルフェニル基である化合物である請求項2に記載の一酸化窒素合成酵素阻害剤。

【請求項5】 有効成分が、5-n-ブチル-7-(3, 4, 5-トリメトキシベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン、5-フェニル-7-(3, 4, 5-トリメトキシベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン及び5-n-ブチル-7-(2-トリフルオロメチルベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジンから選ばれる化合物である請求項4に記載の一酸化窒素合成酵素阻害剤。

【請求項6】 有効成分が、5-n-ブチル-7-(3, 4, 5-トリメトキシベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジンである請求項5に記載の一酸化窒素合成酵素阻害剤。

【請求項7】 誘導型一酸化窒素合成酵素を選択的に阻害する請求項1～6のいずれかに記載の一酸化窒素合成酵素阻害剤。

【請求項8】 請求項1に記載のピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン誘導体の有効量を、無毒性担体と共に含有することを特徴とする敗血症予防及び治療剤。

【請求項9】 請求項1に記載のピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン誘導体の有効量を、無毒性担体と共に含有することを特徴とするエンドトキシンショック改善剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は新規なNO（一酸化窒素）合成酵素阻害剤、より詳しくは誘導型NO合成酵素の誘導を阻害する薬剤に関する。

【0002】

【従来の技術】1980年代前半、生体内における窒素酸化物の研究過程で、NO（一酸化窒素）が生体内で産生していることが初めて見出された。その発見をきっかけに、NOは多くの研究者の注目を集め、1987年には、NOが血管内皮由来弛緩因子の本体であるとの報告がなされた。そして、現在では、循環、免疫、神経系等広い分野で、NOの生理機能や病態との関連が明らかにされている。

【0003】そのうち、例えば、体内で常時産生しているNOは、循環動態の恒常性を維持する重要な役割を担

っていることが解明されている。また一方、敗血症においては、エンドトキシンにより活性化されたサイトカインの働きにより、大量のNOが産生され、これが内皮細胞障害、心筋収縮力低下等のエンドトキシンショック状態を引き起こすといわれている。

【0004】NOは、NO合成酵素(NOS)によってL-アルギニンから産生される。そして、その酵素には、大きく分けて病態時のNO産生に係わる誘導型NOS(iNOS)と、常時発現している構成型NOS(cNOS)とがある。

【0005】上記したように、NOは敗血症等の種々の疾患に関与しているので、そのメカニズムの解明、惹いてはそれら疾患の治療薬への応用等を目的として、NOS阻害剤の研究が進められており、その代表例としては、N-ω-ニトロ-L-アルギニン等のアルギニン類縁体が挙げられる。

【0006】しかしながら、上記代表例を含む従来公知のNOS阻害剤は、iNOSだけでなく、cNOSをも阻害してしまうものが殆どであり、之等の治療薬としての利用によれば、恒常的な循環動態の調節までもが抑制されてしまい、血圧上昇、臓器血流減少等の副作用を回避することはできない。更に、之等の利用時には、中枢神経系への影響やインポテンツ等の問題も懸念される。

【0007】以上のように、従来知られているNOS阻害剤は、医薬品として評価できるものではなく、之等に代わって、iNOSを選択的に阻害することのできる新しい物質の提供が当業界で要望されている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、当業界で要望されているiNOSのみを選択的に阻害できる物質及びこれを利用した一酸化窒素合成酵素阻害剤を提供することにある。

【0009】本発明者らの研究グループは、かねてより医薬製剤有効成分化合物の開発を目的として、種々の化合物の合成及びそれらの有する薬理作用の研究、解明等を行なってきたが、その過程で、先に、強力な鎮痛作用を有する一連のピラゾロピリミジン誘導体の合成に成功し、この化合物に係わる発明を特許出願した〔WO95/35298〕。

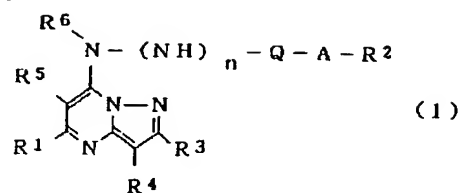
【0010】引き続き研究において、本発明者らは、上記一連の化合物が、先に見出された鎮痛作用とは別個に、しかも該作用とは無関係に、iNOSの誘導阻害作用を有するという事実を新たに見出し、ここに本発明を完成するに至った。

【0011】

【課題を解決するための手段】即ち、本発明によれば、下記一般式(1)で表わされるピラゾロ〔1,5-a〕ピリミジン誘導体を有効成分とする一酸化窒素合成酵素阻害剤が提供される。

【0012】

【化2】



【0013】上記一般式(1)中、R¹は水素原子、置換基としてチエニル基、低級アルコキシ基、低級アルキルチオ基、オキシ基又はヒドロキシル基を有することのある低級アルキル基、シクロアルキル基、チエニル基、フリル基、低級アルケニル基又は置換基として低級アルキル基、低級アルコキシ基、フェニルチオ基及びハロゲン原子から選ばれる基の1~3個を有することのあるフェニル基を、R²はナフチル基、シクロアルキル基、フリル基、チエニル基、ハロゲン原子で置換されることのあるピリジル基、ハロゲン原子で置換されることのあるフェノキシ基又は置換基として低級アルキル基、低級アルコキシ基、ハロゲン原子、ニトロ基、ハロゲン置換低級アルキル基、ハロゲン置換低級アルコキシ基、低級アルコキシカルボニル基、ヒドロキシル基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、シアノ基、低級アルカノイルオキシ基、フェニル基及びジ低級アルコキシホスホリル低級アルキル基から選ばれる基の1~3個を有することのあるフェニル基を、R³は水素原子、フェニル基又は低級アルキル基を、R⁴は水素原子、低級アルキル基、低級アルコキシカルボニル基、フェニル低級アルキル基、置換基としてフェニルチオ基を有することのあるフェニル基又はハロゲン原子を、R⁵は水素原子又は低級アルキル基を、R⁶は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基又は置換基として低級アルコキシ基、ハロゲン置換低級アルキル基及びハロゲン原子から選ばれる基の1~3個を有するベンゾイル基を示し、またR¹及びR⁵は互いに結合して低級アルキレン基を形成してもよく、Qはカルボニル基又はスルホニル基を、Aは単結合、低級アルキレン基又は低級アルケニレン基をそれぞれ示し、nは0又は1を示す。

【0014】上記一般式(1)で表わされる誘導体は、一酸化窒素合成阻害作用、殊に誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)を選択的に阻害する作用を有しており、従って、血圧上昇、臓器血流減少、中枢神経系への悪影響等の副作用を殆ど示さない点において特徴づけられる。

【0015】本発明一酸化窒素合成酵素阻害剤の有効成分を表わす上記一般式(1)中の各基としては、例えば次の各基を例示できる。即ち、低級アルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシル基等の直鎖又は分枝鎖状低級アルキル基を例示できる。

【0016】シクロアルキル基としては、シクロプロピ

ル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル基等を例示できる。

【0017】低級アルコキシ基としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、ペンチルオキシ、ヘキシルオキシ基等を例示できる。

【0018】低級アルキルチオ基としては、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、ブチルチオ、ペンチルチオ、ヘキシルチオ基等を例示できる。

【0019】ハロゲン原子には、弗素、塩素、臭素及び沃素原子が包含される。

【0020】ハロゲン置換低級アルキル基としては、トリフルオロメチル、ペンタフルオロエチル、ヘプタフルオロプロピル、ノナフルオロブチル、ウンデカフルオロペンチル、トリデカフルオロヘキシル基等を例示できる。

【0021】ハロゲン置換低級アルコキシ基としては、トリフルオロメトキシ、ペンタフルオロエトキシ、ヘプタフルオロプロポキシ、ノナフルオロブトキシ、ウンデカフルオロペンチルオキシ、トリデカフルオロヘキシルオキシ基等を例示できる。

【0022】低級アルコキシカルボニル基としては、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、ペンチルオキシカルボニル、ヘキシルオキシカルボニル基等を例示できる。

【0023】ジ低級アルコキシホスホリル低級アルキル基としては、ジメトキシホスホリルメチル、ジエトキシホスホリルメチル、ジプロポキシホスホリルメチル、ジイソプロポキシホスホリルメチル、ジブトキシホスホリルメチル、ジペンチルオキシホスホリルメチル、ジヘキシルオキシホスホリルメチル、2-(ジメトキシホスホリル)エチル、2-(ジエトキシホスホリル)エチル、3-(ジエトキシホスホリル)プロピル基等を例示できる。

【0024】ナフチル基には、1-ナフチル、2-ナフチル基が包含される。

【0025】低級アルキレン基としては、メチレン、エチレン、トリメチレン、テトラメチレン、ペンタメチレン、ヘキサメチレン基等を例示できる。

【0026】低級アルケニレン基としては、ビニレン、プロペニレン基等を例示できる。

【0027】ハロゲン原子で置換されることのあるビリジル基としては、2-ビリジル、3-ビリジル、4-ビリジル、6-クロロ-2-ビリジル、5-クロロ-2-ビリジル、4-クロロ-2-ビリジル、3-クロロ-2-ビリジル、6-クロロ-3-ビリジル、5-クロロ-3-ビリジル、4-クロロ-3-ビリジル、2-クロロ-3-ビリジル、2-クロロ-4-ビリジル、3-クロロ-4-ビリジル、6-フルオロ-3-ビリジル、6-ブロモ-3-ビリジル、6-ヨード-3-ビリジル基等を

例示できる。

【0028】ハロゲン原子で置換されることのあるフェノキシ基としては、フェノキシ、2-クロロフェノキシ、3-クロロフェノキシ、4-クロロフェノキシ、4-フルオロフェノキシ、4-ブロモフェノキシ、4-ヨードフェノキシ基等を例示できる。

【0029】チエニル基には、2-チエニル及び3-チエニル基が包含され、またフリル基には、2-フリル及び3-フリル基が包含される。

【0030】低級アルケニル基としては、ビニル、アリル、イソプロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-ペンテニル、4-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニル基等を例示できる。

【0031】フェニル低級アルキル基としては、ベンジル、1-フェニルエチル、2-フェニルエチル、3-フェニルプロピル、4-フェニルブチル、5-フェニルペンチル、6-フェニルヘキシル基等を例示できる。

【0032】フェニル低級アルコキシ基としては、ベンジロキシ、2-フェニルエトキシ、3-フェニルプロポキシ、4-フェニルブトキシ、5-フェニルペンチルオキシ、6-フェニルヘキシルオキシ基等を例示できる。

【0033】低級アルカノイルオキシ基としては、アセトキシ、プロピオニルオキシ、ブチリルオキシ、バレリルオキシ、ピバロイルオキシ、ヘキサノイルオキシ、ヘプタノイルオキシ基等を例示できる。

【0034】置換基としてチエニル基、低級アルコキシ基、低級アルキルチオ基、オキソ基又はヒドロキシ基を有することのある低級アルキル基としては、上記無置換の低級アルキル基に加えて、2-チエニルメチル、3-チエニルメチル、1-(2-チエニル)エチル、1-(3-チエニル)エチル、2-(2-チエニル)エチル、2-(3-チエニル)エチル、3-(2-チエニル)プロピル、4-(2-チエニル)ブチル、5-(2-チエニル)ペンチル、6-(2-チエニル)ヘキシル、メトキシメチル、エトキシメチル、プロポキシメチル、ブトキシメチル、ペンチルオキシメチル、ヘキシルオキシメチル、1-メトキシエチル、2-メトキシエチル、3-メトキシプロピル、4-メトキシブチル、5-メトキシペンチル、6-メトキシヘキシル、ヒドロキシメチル、1-ヒドロキシエチル、2-ヒドロキシエチル、1-ヒドロキシプロピル、2-ヒドロキシプロピル、3-ヒドロキシプロピル、3-ヒドロキシブチル、4-ヒドロキシペンチル、5-ヒドロキシヘキシル、メチルチオメチル、エチルチオメチル、プロピルチオメチル、ブチルチオメチル、ペンチルチオメチル、ヘキシルチオメチル、2-メチルチオエチル、3-メチルチオプロピル、4-メチルチオブチル、5-メチルチオペンチ

ル、6-メチルチオヘキシル、ホルミル、ホルミルメチル、アセチル、2-ホルミルエチル、2-オキソプロピル、プロピオニル、3-ホルミルプロピル、3-オキソブチル、2-オキソブチル、ブチリル、4-ホルミルブチル、4-オキソベンチル、3-オキソベンチル、2-オキソベンチル、バレリル、5-ホルミルベンチル、5-オキソヘキシル、4-オキソヘキシル、3-オキソヘキシル、2-オキソヘキシル、ヘキサノイル基等を例示できる。

【0035】置換基として低級アルキル基、低級アルコキシ基、フェニルチオ基及びハロゲン原子から選ばれる基の1~3個を有することのあるフェニル基としては、フェニル、2-メチルフェニル、3-メチルフェニル、4-メチルフェニル、4-エチルフェニル、4-プロピルフェニル、4-ブチルフェニル、4-ヘプチルフェニル、4-ペンチルフェニル、4-ヘキシルフェニル、2, 3-ジメチルフェニル、2, 4-ジメチルフェニル、2, 5-ジメチルフェニル、2, 6-ジメチルフェニル、3, 4-ジメチルフェニル、3, 5-ジメチルフェニル、2-メトキシフェニル、3-メトキシフェニル、4-メトキシフェニル、4-エトキシフェニル、4-プロポキシフェニル、4-ブトキシフェニル、4-ペンチルオキシフェニル、4-ヘキシルオキシフェニル、2, 3-ジメトキシフェニル、2, 4-ジメトキシフェニル、2, 5-ジメトキシフェニル、2, 6-ジメトキシフェニル、3, 4-ジメトキシフェニル、3, 5-ジメトキシフェニル、3, 4, 5-トリメトキシフェニル、2-クロロフェニル、3-クロロフェニル、4-クロロフェニル、4-ブromoフェニル、4-ヨードフェニル、4-フルオロフェニル、4-(フェニルチオ)フェニル、3-(フェニルチオ)フェニル、2-(フェニルチオ)フェニル基等を例示できる。

【0036】置換基として低級アルキル基、低級アルコキシ基、ハロゲン原子、ニトロ基、ハロゲン置換低級アルキル基、ハロゲン置換低級アルコキシ基、低級アルコキシカルボニル基、ヒドロキシル基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、シアノ基、低級アルカノイルオキシ基、フェニル基及び低級アルコキシホスホリル低級アルキル基から選ばれる基の1~3個を有することのあるフェニル基としては、次の各基を例示できる。

【0037】即ち、フェニル、2-メチルフェニル、3-メチルフェニル、4-メチルフェニル、4-エチルフェニル、4-プロピルフェニル、4-ブチルフェニル、4-ヘプチルフェニル、4-ペンチルフェニル、4-ヘキシルフェニル、2-メトキシフェニル、3-メトキシフェニル、4-メトキシフェニル、4-エトキシフェニル、4-プロポキシフェニル、4-ブトキシフェニル、4-ペンチルオキシフェニル、4-ヘキシルオキシフェニル、2, 3-ジメトキシフェニル、2, 4-ジメトキシフェニル、2, 5-ジメトキシフェニル、2, 6-

-ジメトキシフェニル、3, 4-ジメトキシフェニル、3, 5-ジメトキシフェニル、2, 3, 4-トリメトキシフェニル、2, 3, 5-トリメトキシフェニル、2, 3, 6-トリメトキシフェニル、2, 4, 5-トリメトキシフェニル、2, 4, 6-トリメトキシフェニル、3, 4, 5-トリメトキシフェニル、3, 4, 5-トリエトキシフェニル、2-フルオロフェニル、3-フルオロフェニル、4-フルオロフェニル、2-クロロフェニル、3-クロロフェニル、4-クロロフェニル、2-ブromoフェニル、3-ブromoフェニル、4-ブromoフェニル、4-ヨードフェニル、2, 3-ジクロロフェニル、2, 4-ジクロロフェニル、2-ニトロフェニル、3-ニトロフェニル、4-ニトロフェニル、2-トリフルオロメチルフェニル、3-トリフルオロメチルフェニル、4-トリフルオロメチルフェニル、4-ペンタフルオロエチルフェニル、4-ヘプタフルオロプロピルフェニル、4-ノナフルオロブチルフェニル、4-ウンデカフルオロベンチルフェニル、4-トリデカフルオロヘキシルフェニル、2-メトキシカルボニルフェニル、3-メトキシカルボニルフェニル、4-メトキシカルボニルフェニル、4-エトキシカルボニルフェニル、4-プロポキシカルボニルフェニル、4-ブトキシカルボニルフェニル、4-ペンチルオキシカルボニルフェニル、4-ヘキシルオキシカルボニルフェニル、2-ビフェニル、3-ビフェニル、4-ビフェニル、2-(ジエトキシホスホリルメチル)フェニル、3-(ジエトキシホスホリルメチル)フェニル、4-(ジエトキシホスホリルメチル)フェニル、4-(ジイソプロポキシホスホリルメチル)フェニル、3, 5-ジメトキシ-4-エトキシフェニル、3, 5-ジメトキシ-4-プロポキシフェニル、4-ブトキシ-3, 5-ジメトキシフェニル、3, 5-ジメトキシ-4-ペンチルオキシフェニル、3, 5-ジメトキシ-4-ヘキシルオキシフェニル、2, 3-ビス(トリフルオロメチル)フェニル、2, 4-ビス(トリフルオロメチル)フェニル、2, 5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル、2, 6-ビス(トリフルオロメチル)フェニル、3, 4-ビス(トリフルオロメチル)フェニル、3, 5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル、3, 5-ジメトキシ-4-ヒドロキシフェニル、3, 5-ジエトキシ-4-ヒドロキシフェニル、3, 5-ジプロポキシ-4-ヒドロキシフェニル、4-ベンジルオキシ-3, 5-ジメトキシフェニル、4-ベンジルオキシ-3, 5-ジエトキシフェニル、3, 5-ジメトキシ-4-(2-フェニルエトキシ)フェニル、4-アセトキシ-3, 5-ジメトキシフェニル、3, 5-ジメトキシ-4-プロピオニルオキシフェニル、2-クロロ-3, 5-ジメトキシフェニル、4-ブromo-3, 5-ジメトキシフェニル、3, 5-ジメトキシ-4-ヨードフェニル、3, 5-

ージクロロ-4-メトキシフェニル、3, 5-ジクロロ-4-エトキシフェニル、2-アミノフェニル、3-アミノフェニル、4-アミノフェニル、2-シアノフェニル、3-シアノフェニル、4-シアノフェニル、4-トリフルオロメトキシフェニル、3-トリフルオロメトキシフェニル、2-トリフルオロメトキシフェニル、4-ペンタフルオロエトキシフェニル、4-ヘプタフルオロプロポキシフェニル、4-ノナフルオロブトキシフェニル、4-ウンデカフルオロペンチルオキシフェニル、4-トリデカフルオロヘキシルオキシフェニル、3, 5-ビス(トリフルオロメトキシ)フェニル、3, 4, 5-トリス(トリフルオロメトキシ)フェニル基等を例示できる。

【0038】置換基としてフェニルチオ基を有することのあるフェニル基としては、フェニル、4-(フェニルチオ)フェニル、3-(フェニルチオ)フェニル、2-(フェニルチオ)フェニル基等を例示できる。

【0039】置換基として低級アルコキシ基、ハロゲン置換低級アルキル基及びハロゲン原子から選ばれる基の1~3個を有するベンゾイル基としては、2-クロロベンゾイル、3-クロロベンゾイル、4-クロロベンゾイル、2-フルオロベンゾイル、2-ブromoベンゾイル、2-ヨードベンゾイル、2, 4-ジクロロベンゾイル、3, 4-ジクロロベンゾイル、2, 5-ジクロロベンゾイル、2, 6-ジクロロベンゾイル、2-トリフルオロメチルベンゾイル、3-トリフルオロメチルベンゾイル、4-トリフルオロメチルベンゾイル、3, 5-ビス(トリフルオロメチル)ベンゾイル、3, 4, 5-トリス(トリフルオロメチル)ベンゾイル、2-メトキシベンゾイル、3-メトキシベンゾイル、4-メトキシベンゾイル、2, 3-ジメトキシベンゾイル、2, 4-ジメトキシベンゾイル、3, 5-ジメトキシベンゾイル、3, 4, 5-トリメトキシベンゾイル、2-エトキシベンゾイル、2-プロポキシベンゾイル、2-ブトキシベンゾイル、2-ペンチルオキシベンゾイル、2-ヘキシルオキシベンゾイル基等を例示できる。

【0040】上記一般式(1)で表わされるピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン誘導体は、一酸化窒素合成酵素阻害剤、特に誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)を選択的に阻害する薬剤として、敗血症、エンドトキシンショック、慢性関節リウマチ等の治療及び予防に有用であり、従来の一酸化窒素合成酵素阻害剤にみられる如き副作用が非常に少ない利点がある。

【0041】上記一酸化窒素合成酵素阻害剤として好ましいピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン誘導体としては、前記一般式(1)中、 R^5 及び R^6 がそれぞれ水素原子で、Qがカルボニル基で、Aが単結合で、nが0である化合物を例示できる。該化合物の内でも、特に R^1 がフェニル基又は置換基としてヒドロキシル基又は低級アルコキシ基を有することのある低級アルキル基で、 R^2

が置換基として低級アルコキシ基、ハロゲン置換低級アルキル基及びハロゲン原子から選ばれる基の1~3個を有するフェニル基で、 R^4 が水素原子又はフェニル基である化合物、より具体的には R^1 がフェニル基、メチル基、エチル基、n-ブチル基又はn-ペンチル基で、 R^2 が4-エトキシ-3, 5-ジメトキシフェニル基、3, 4, 5-トリメトキシフェニル基、2-メトキシフェニル基、2, 4-ジクロロフェニル基又は2-トリフルオロメチルフェニル基である化合物は、好適である。

【0042】之等好適なピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン誘導体の具体例としては、例えば5-n-ブチル-7-(3, 4, 5-トリメトキシベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン、5-フェニル-7-(3, 4, 5-トリメトキシベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン及び5-n-ブチル-7-(2-トリフルオロメチルベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジンを例示することができ、この内でも5-n-ブチル-7-(3, 4, 5-トリメトキシベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジンは最適である。

【0043】上記一般式(1)で表わされる本発明有効成分化合物は、各種の方法により製造することができ、その具体例としては、前記WO95/35298号公報に記載の方法を例示することができる。

【0044】代表的には、該方法は、適当なカルボン酸エステルと3-アミノピラゾールイルとを縮合反応させて、7-ヒドロキシピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン類を得、次いでこれをハロゲン化して、7-ハロゲノピラゾロ〔1, 5-a〕ピリミジン類とし、更にこれをアンモニア水又はヒドラジンで処理して7-アミノ体に変換し、これに酸ハロゲン化物を反応させることにより実施できる。

【0045】かかる方法に従い得られる本発明有効成分化合物の具体例としては、後記第1表~第5表に実施例No. 1~134として示す各化合物を例示することができる。

【0046】上記一般式(1)で表わされる化合物は、医薬的に許容される酸付加塩とすることができ、之等の塩も本発明一酸化窒素合成酵素阻害剤の有効成分化合物に包含される。上記酸付加塩を形成させ得る酸としては、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸等の無機酸、シュウ酸、フマル酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸等の有機酸を例示でき、この酸付加塩の形成反応は常法に従うことができる。

【0047】また、上記一般式(1)で表わされる化合物中、 R^6 が水素原子であるものは、これを常法に従ってアルカリ金属塩、例えばナトリウム塩、カリウム塩等、アルカリ土類金属塩、例えばカルシウム塩、マグネシウム塩等、その他銅塩等とすることができ、之等の塩類も本発明一酸化窒素合成酵素阻害剤有効成分化合物に

包含される。

【0048】尚、一般式(1)で表わされる化合物中、Aがアルケニレン基である化合物及びR1が低級アルケニル基である化合物の一部は、シス、トランス異性体構造をとることができ、本発明一酸化窒素合成酵素阻害剤は之等のいずれをも有効成分とすることができる。

【0049】また、一般式(1)で表わされる化合物中の一部の化合物は、炭素原子を不斉中心とした光学異性体が存在し、本発明一酸化窒素合成酵素阻害剤は、かかる光学活性体及びラセミ体のいずれをも有効成分とすることができる。

【0050】本発明一酸化窒素合成酵素阻害剤は、上記一般式(1)で表わされる化合物を有効成分として、これを、適当な無毒性製剤担体と共に用いて、一般的な医薬製剤組成物の形態とされ実用される。

【0051】本発明医薬製剤に利用される上記製剤担体としては、製剤の使用形態に応じて、通常使用される充填剤、増量剤、結合剤、付湿剤、崩壊剤、表面活性剤、滑沢剤等の希釈剤あるいは賦形剤を例示でき、これらは得られる製剤の投与単位形態に応じて適宜選択使用される。

【0052】上記医薬製剤の投与単位形態としては、各種の形態が治療目的に応じて選択でき、その代表的なものとしては錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、坐剤、注射剤(液剤、懸濁剤等)、軟膏剤等が挙げられる。

【0053】錠剤の形態に成形するに際しては、上記製剤担体として例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸、リン酸カリウム等の賦形剤、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン等の結合剤、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム等の崩壊剤、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド等の界面活性剤、白糖、ステアリン、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤、第4級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤、グリセリン、デンプン等の保湿剤、デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコール等の滑沢剤等を使用できる。更に錠剤は必要に応じて通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠あるいは二重錠、多層錠とすることができる。

【0054】丸剤の形態に成形するに際しては、製剤担体として例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤、アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン、エタノール等の結合剤、ラミナラン、カンテン等の崩壊剤等を使用できる。

【0055】坐剤の形態に成形するに際しては、製剤担体として例えばポリエチレングリコール、カカオ脂、高級アルコール、高級アルコールのエステル類、ゼラチン、半合成グリセリド等を使用できる。

【0056】カプセル剤は、常法に従い通常本発明の有効成分化合物を上記で例示した各種の製剤担体と混合して硬質ゼラチンカプセル、軟質カプセル等に充填して調整される。

【0057】液剤、乳剤、懸濁剤等の注射剤として調製される場合、之等は殺菌され且つ血液と等張であるのが好ましく、之等の形態に成形するに際しては、希釈剤として例えば水、エチルアルコール、マクロゴール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類等を使用できる。尚、この場合等張性の溶液を調整するに充分な量の食塩、ブドウ糖あるいはグリセリンを本発明薬剤中に含有させてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤等を添加してもよい。

【0058】更に、本発明薬剤中には、必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤等や他の医薬品を含有させることもできる。

【0059】ペースト、クリーム、ゲル等の軟膏剤の形態に成形するに際しては、希釈剤として例えば白色ワセリン、パラフィン、グリセリン、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト等を使用できる。

【0060】本発明薬剤中に含有されるべき一般式(1)で表わされる有効成分化合物の量は、特に限定されず広範囲より適宜選択されるが、通常医薬製剤中に約1~70重量%程度含有されるものとするのがよい。

【0061】上記医薬製剤の投与方法は特に制限がなく、各種製剤形態、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度等に応じて決定される。例えば錠剤、丸剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤及びカプセル剤は経口投与され、注射剤は単独で又はブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内投与され、更に必要に応じ単独で筋肉内、皮内、皮下もしくは腹腔内投与され、坐剤は直腸内投与される。

【0062】上記医薬製剤の投与量は、その用法、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度等により適宜選択されるが、通常有効成分である本発明化合物の量が1日当たり体重1kg当たり約0.5~20mg程度とするのがよく、該製剤は1日に1~4回に分けて投与することができる。

【0063】

【実施例】以下、本発明を更に詳しく説明するため、本発明一酸化窒素合成酵素阻害剤の調製例を製剤例として挙げ、次いで薬理試験例を挙げる。

【0064】

【製剤例1】 カプセル剤の調製

有効成分化合物	250g
結晶セルロース（日本薬局方品）	30g
コーンスターチ（日本薬局方品）	17g
タルク（日本薬局方品）	2g
ステアリン酸マグネシウム（日本薬局方品）	1g

即ち、上記処方に従い、各成分を細かく粉末にし、均一な混合物となるように混和後、所望の寸法を有する経口投与用ゼラチンカプセルに充填して、目的のカプセル剤を調製した。

【0066】

【製剤例2】 錠剤の調製

有効成分化合物	600g
乳糖（日本薬局方品）	67g
コーンスターチ（日本薬局方品）	33g
カルボキシメチルセルロースカルシウム（日本薬局方品）	25g
メチルセルロース（日本薬局方品）	12g
ステアリン酸マグネシウム（日本薬局方品）	3g

即ち、上記処方に従い、有効成分化合物、乳糖、コーンスターチ及びカルボキシメチルセルロースカルシウムを充分混合し、メチルセルロース水溶液を用いて混合物を顆粒化し、24メッシュの篩を通し、これをステアリン酸マグネシウムと混合して、錠剤にプレスして、目的の錠剤を得た。

【0068】

有効成分化合物	400g
結晶セルロース（日本薬局方品）	60g
コーンスターチ（日本薬局方品）	34g
タルク（日本薬局方品）	4g
ステアリン酸マグネシウム（日本薬局方品）	2g

即ち、上記処方に従い、各成分を細かく粉末にし、均一な混合物となるように混和した後、所望の寸法を有する経口投与用ゼラチンカプセルに充填して、目的のカプセル剤を得た。

【0070】

【製剤例4】 錠剤の調製

有効成分化合物	600g
乳糖（日本薬局方品）	67g
コーンスターチ（日本薬局方品）	33g
カルボキシメチルセルロースカルシウム（日本薬局方品）	25g
メチルセルロース（日本薬局方品）	12g
ステアリン酸マグネシウム（日本薬局方品）	3g

即ち、上記処方に従い、有効成分化合物、乳糖、コーンスターチ及びカルボキシメチルセルロースカルシウムを充分混合し、メチルセルロース水溶液を用いて混合物を

有効成分化合物として5-n-ブチル-7-(3,4,5-トリメトキシベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1,5-a〕ピリミジンを用いて、1カプセル当りその250mgを含有する硬質ゼラチンカプセル（1000個）を、次の処方により調製した。

【0065】

有効成分として5-n-ブチル-7-(3,4,5-トリメトキシベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1,5-a〕ピリミジンを用いて、1錠当りその300mgを含有する錠剤（2000錠）を、次の処方により調製した。

【0067】

【製剤例3】 カプセル剤の調製

有効成分として5-n-ブチル-7-(2-トリフルオロメチルベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1,5-a〕ピリミジンを用いて、1カプセル当りその200mgを含有する硬質ゼラチンカプセル（2000個）を、次の処方により調製した。

【0069】

有効成分として5-n-ブチル-7-(2-トリフルオロメチルベンゾイルアミノ)ピラゾロ〔1,5-a〕ピリミジンを用いて、1錠当りその300mgを含有する錠剤（2000錠）を、次の処方により調製した。

【0071】

顆粒化し、24メッシュの篩を通し、これをステアリン酸マグネシウムと混合して、錠剤にプレスして、目的の錠剤を得た。

【0072】

【薬理試験例1】ウィスター (Wistar) 系雄性ラット (8週齢、200~250g) を頸椎脱臼により屠殺し、直ちに胸部大動脈を摘出し、周囲の結合組織を剥離した。次に、血管内皮細胞に存在するcNOSの影響をなくすため、血管内腔を綿糸にて擦過して内皮細胞を除去し、これを2mm長さに切り分け、リング状標本とした。この標本を、クレブス・ヘンゼライト液 (NaCl 118mM、KCl 4.7mM、CaCl₂ 2.5mM、KH₂PO₄ 1.2mM、MgSO₄ 1.2mM、NaHCO₃ 25mM、グルコース11mM) を10ml入れた臓器浴中に1gの圧力下で懸垂し、O₂/CO₂ (95%/5%) 混合ガスを連続的に通気した。

【0073】まず、この標本について、フェニレフリン 3×10^{-7} M添加して血管を収縮させた後、アセチルコリン 10^{-5} Mを加えた場合及びL-アルギニン 10^{-5} Mを加えた場合のいずれでも弛緩が起きないこと、即ちcNOSとiNOSの両者が欠如していることを確認した。

【0074】次に、上記標本にリボポリサッカライド (LPS) 300ng/mlを加え、8時間後にL-アルギニン 10^{-5} Mを加えて、血管の弛緩及びサイクリックGMP (cGMP) 濃度を測定した (対照群)。

【0075】一方、LPSを添加する30分前に、5-*n*-ブチル-7- (3, 4, 5-トリメトキシベンゾイルアミノ) ピラゾロ [1, 5-*a*] ピリミジン (第1表中実施例1の化合物) の 3×10^{-5} Mを臓器浴中に添加しておき、L-アルギニン添加後の血管の弛緩及びcGMP濃度を上記と同様にして測定した (本発明群)。

【0076】尚、血管の収縮及び弛緩は、アイソトニックトランスデューサー (isotonic transducer, 日本光電製、TD-111T) にて測定し、レコーダー (NIHON DENSI KAGAKU, U-228) で記録した。また、cGMP濃度は、市販のラジオイムノアッセイキット (Amersham, cGMP [¹²⁵I] アッセイシステム) で測定した。

【0077】その結果、本発明群では、血管の弛緩が対照群と比較して70%抑制された。また、cGMP濃度も、本発明群では対照群と比較して80%抑制された。

【0078】このことから、本発明有効成分化合物は、LPSによるiNOSの誘導を阻害していることが明らかである。

【0079】

【薬理試験例2】ウィスター (Wistar) 系雄性ラット (8週齢、200~250g) を頸椎脱臼により屠殺し、直ちに胸部大動脈を摘出し、周囲の結合組織を剥離した。血管を、コラーゲナーゼ238U/ml、エステラーゼ22.5U/ml、ウシ血清アルブミン0.2%を含有するHEPES・ハンクス液 (CaCl₂・H₂O 185.5mg/l、KCl 400.0mg/l、KH₂PO₄ 60.0mg/l、MgSO₄ 97.7mg

/l、NaCl 8000.0mg/l、NaHCO₃ 50.0mg/l、Na₂HPO₄ 47.5mg/l、グルコース 1000mg/l) 中で37℃にて45分間インキュベートした。

【0080】次に、HEPES・ハンクス液中、この血管から内皮細胞と外膜を剥離して中膜平滑筋のみを取り出し、細切りにして、上記と同様のコラーゲナーゼ、エステラーゼ及びウシ血清アルブミンを含有するHEPES・ハンクス液中で37℃にて70分間インキュベートし、酵素消化させた。これを、ウシ胎児血清を10%含有するダルベッコ変法イーグル培地 (MgSO₄・7H₂O 200.0mg/l、NaCl 6400mg/l、NaHCO₃ 3700.0mg/l、NaH₂PO₄ 125.5mg/l、Fe (NO₃)₃・9H₂O 0.1mg/l、フェノールレッド 15.0mg/l、葉酸 4.0mg/l、ニコチンアミド 4.0mg/l、パントテン酸カルシウム 4.0mg/l、ピリドキサル・HCl 4.0mg/l、リボフラビン 0.4mg/l、チアミン・HCl 4.0mg/l、塩化コリン 4.0mg/l、グルコース 1000mg/l、1-イノシトール 7.0mg/l、ビルビン酸ナトリウム 110.0mg/l) に浮遊させ、数回洗浄し、 2×10^5 個/mlの割合でシャーレに接種した。細胞がコンフエクトになった時点で継代し、4代目で次の実験に使用した。

【0081】即ち、上記培養細胞にL-アルギニン 10^{-5} Mを加え、更にLPS 300ng/ml或いはインターロイキン-1β (IL-1β) 10ng/mlを加えて24時間放置し、蓄積したNO₂の量を測定した (対照群)。

【0082】一方、LPS或いはIL-1βを添加する30分前に、5-*n*-ブチル-7- (3, 4, 5-トリメトキシベンゾイルアミノ) ピラゾロ [1, 5-*a*] ピリミジン (第1表中実施例1の化合物、本発明群1) の 3×10^{-5} M或いは5-*n*-ブチル-7- (2-トリフルオロメチルベンゾイルアミノ) ピラゾロ [1, 5-*a*] ピリミジン (第1表中実施例32の化合物、本発明群2) の 3×10^{-5} Mを臓器浴中に添加しておき、L-アルギニン或いはIL-1β添加24時間後の蓄積したNO₂の量を上記と同様にして測定した (本発明群)。

【0083】尚、NO₂の量は、培養上清に等量のGriess試薬 (0.1% N- (1-ナフチル) エチレンジアミン・ジハイドロクロライド/H₂O + 1% スルファニルアミン/2.5% H₃PO₄) を加え、570nmにおける吸光度を測定することにより定量した。

【0084】結果を図1及び図2に示す。

【0085】尚、図1は、LPSを添加した場合のデータを、図2はIL-1βを添加した場合のデータをそれぞれ示す。また、それぞれの図には、コントロールとして何も添加しなかった群のデータを併記する。

【0086】図1及び図2より、本発明有効成分化合物は、LPS及びIL-1 β によるiNOSの誘導を阻害していることが明らかである。

【0087】

【薬理試験例3】スプラークダウリユー (Sprague Dawley) 系雄性ラット (6~9週齢、200~250g) を頸椎脱臼により屠殺し、直ちに胸部大動脈を摘出し、周囲の結合組織を剥離した。次に、これを5~7個に輪切りに分割し、それぞれ縦に切り開いた後、血管内皮細胞に存在するcNOSの影響をなくすため、血管内腔を洗浄綿棒にて擦過して内皮細胞を除去して、標本を調製した。

【0088】30 μ M濃度に調製した本発明有効成分化合物 (供試化合物) のジメチルスルホキシド溶液を添加し、更に400 μ M濃度となるようにL-アルギニンを添加したクレブス・ヘンゼライト液 (薬理試験例1で用いたものと同一組成) 中に、上記標本を入れ、37℃で30分間インキュベートした。続いて、リボポリサッカライド (LPS) を1000ng/mlの濃度で添加し、37℃で24時間インキュベートした (供試化合物を用いた実験群、本発明群)。

【0089】次に、上清を96穴プレートに取り、文献 [新生化学実験講座10、血管、内皮と平滑筋、135頁、日本生化学会編、東京化学同人、1993年] に記載のNO₂測定法に従い、NO₂をグリース (Griess) 液

で発色させ、バイオカイネチックスリーター (Biokinetics reader, BIO-TEK Instruments 社製、EL-340型) で測定して、蓄積されたNO₂量を算出した。

【0090】また、標本の血管片を、1N水酸化ナトリウム水溶液に溶解させ、バイオラッドDCプロテインアッセイキット (Bio-Rad DC protein assay kit, Bio-Rad Laboratories社製) で発色させ、スペクトロフォトメーター (Spectrophotometer, HITACHI社製、U-3000型) で測定して、蛋白量を算出した。そして、之等の値より、蛋白1mg当たりのNO₂生成量を求めた。

【0091】一方、供試化合物の代わりにジメチルスルホキシドを加えた対照群、及びLPSも加えないコントロール群について、同一試験を繰り返した。

【0092】以上のようにして求められた各群における蛋白1mg当たりのNO₂生成量より、iNOS誘導阻害率を下式に従い求めた。

【0093】阻害率 (%) = { 1 - [(本発明群値) - (コントロール群値)] / [(対照群値) - (コントロール群値)] } \times 100

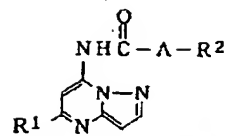
得られた結果を第6表に示す。

【0094】第6表より、本発明有効成分化合物は、LPSによるiNOSの誘導を阻害していることが明らかである。

【0095】

【表1】

第 1 表



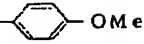
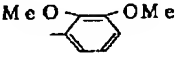
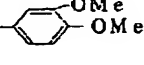
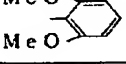
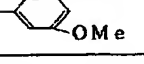
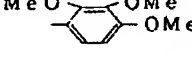
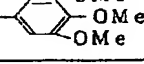
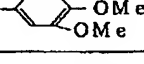

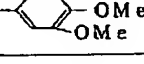
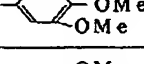
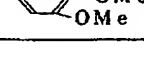
Me:メチル基、Et:エチル基、nPr:n-プロピル基、
nBu:n-ブチル基、nPe:n-ペンチル基、Ph:フェニル基

実施 例No	R ¹	R ²	A	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
1	nBu		単 結 合	127~129 (ジエチル- <i>i</i> - <i>n</i> -ヘキサン)
2	nBu	Ph	単 結 合	83~85 (酢酸エチル- <i>n</i> -ヘキサン)
3	nBu		単 結 合	102~104 (<i>n</i> -ヘキサン)
4	nBu		単 結 合	94~95 (<i>n</i> -ヘキサン)
5	nBu		単 結 合	83~84 (<i>n</i> -ヘキサン)
6	nBu		単 結 合	¹ H-NMR (CDCl ₃) 0.97(3H,t,J=7.3), 1.37(9H,s), 1.4~1.5(2H,m), 1.7~1.9(2H,m), 2.86(2H,t,J=7.8), 6.57(1H,d,J=2.3), 7.58(1H,d,J=8.7), 7.77 (1H,s), 7.97(1H,d,J=8.7), 8.03 (1H,d,J=2.3), 10.0(1H,brs)
7	nBu		単 結 合	82~84 (<i>n</i> -ヘキサン)
8	nBu		単 結 合	49~51 (<i>n</i> -ヘキサン)

【0096】

【表2】

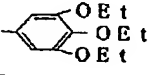
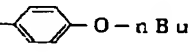


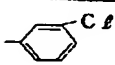
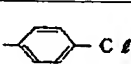
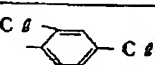

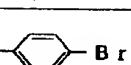
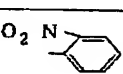
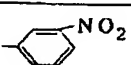
第 1 表 (続 き)

実施 例No	R ¹	R ²	Λ	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
9	nBu		単 結 合	108~109 (n-ヘキサン)
10	nBu		単 結 合	129~132 (n-ヘキサン)
11	nBu		単 結 合	143~144 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
12	nBu		単 結 合	101~103 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
13	nBu		単 結 合	92~94 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
14	nBu		単 結 合	115~117 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
15	Et		単 結 合	141~143 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
16	nPr		単 結 合	119~121 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
17			単 結 合	198~201 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
18	nPe		単 結 合	116~118 (n-ヘキサン)
19	Ph		単 結 合	185~187 (酢酸エチル-n-ヘキサン)

【0097】

【表3】

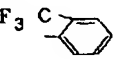
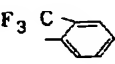
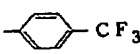
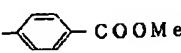
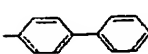
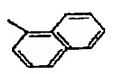
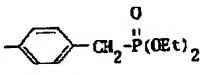

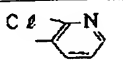
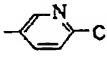
第 1 表 (続 き)

実施 例No	R ¹	R ²	A	融 点 (℃) (再結晶溶媒)
20	nBu		単 結 合	100~102 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
21	nBu		単 結 合	87~90 (n-ヘキサン)
22	nBu		単 結 合	99~100 (n-ヘキサン)
23	nBu		単 結 合	107~109 (ジエチルエーテル)
24	nBu		単 結 合	81~82 (n-ヘキサン)
25	nBu		単 結 合	92~94 (ジエチルエーテル)
26	nBu		単 結 合	97~99 (n-ヘキサン)
27	nBu		単 結 合	93~95 (n-ヘキサン)
28	nBu		単 結 合	97~99 (n-ヘキサン)
29	nBu		単 結 合	133~135 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
30	nBu		単 結 合	143~145 (酢酸エチル-n-ヘキサン)

【0098】

【表4】

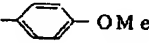
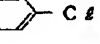
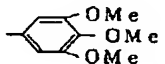
第 1 表 (続 き)

実施 例No	R ¹	R ²	A	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
31	Et		単 結 合	125~127 (ジエチル-テル-n-ヘキサン)
32	nBu		単 結 合	84~87 (n-ヘキサン)
33	nBu		単 結 合	95~97 (n-ヘキサン)
34	nBu		単 結 合	122~123 (n-ヘキサン)
35	nBu		単 結 合	139~141 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
36	nBu		単 結 合	119~121 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
37	nBu		単 結 合	57~60 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
38	nBu		単 結 合	82~84 (ジエチル-テル-n-ヘキサン)
39	nBu		単 結 合	103~105 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
40	nBu		単 結 合	92~93 (ジエチル-テル-n-ヘキサン)
41	nBu	Ph	-CH ₂ -	80~82 (ジエチル-テル-n-ヘキサン)

【0099】

【表5】

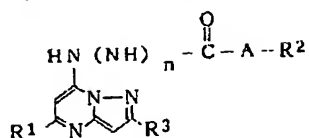
第 1 表 (続 き)

実施 例No.	R ¹	R ²	A	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
42	n Bu	 OMe	-CH ₂ -	73~75 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
43	n Bu	Ph	-C ₂ H ₄ -	¹ H-NMR (CDCl ₃) 0.95(3H,t,J=7.3), 1.3-1.5 (2H,m), 1.7-1.8(2H,m), 2.80 (2H,t,J=7.8), 2.88(2H,t,J=7.5), 3.09(2H,t,J=7.5), 6.53 (1H,d,J=2.2), 7.2-7.3(5H,m), 7.60(1H,s), 7.95(1H,d,J=2.2), 9.23(1H,brs)
44	n Bu	PhO-	-CH ₂ -	108~109 (n-ヘキサン)
45	n Bu	-O-  -C≡	-CH ₂ -	140~142 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
46	n Bu		-CH=CH-	134~137 (酢酸エチル-n-ヘキサン)

【0100】

【表6】

第 2 表



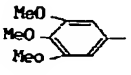

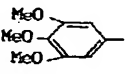
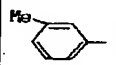
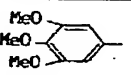
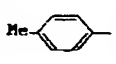
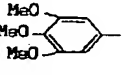
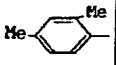
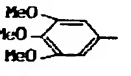
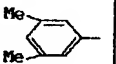
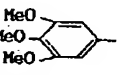
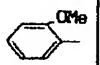
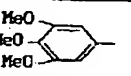
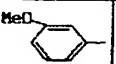
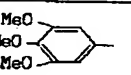
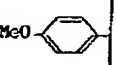
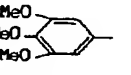
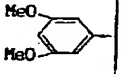
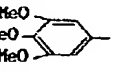
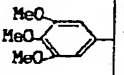
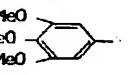
Me:メチル基、Et:エチル基、nPr:n-プロピル基、
 nBu:n-ブチル基、tBu:t-ブチル基、nPe:n-ペンチル基、
 Ph:フェニル基、Ac:アセチル基

実施 例No	R ¹	R ²	R ³	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
47	nBu		H	単 結 合	0	¹ H-NMR (CDCl ₃) 0.95(3H,t,J=7.4), 1.2-2.1 (14H,m), 2.4-2.6(1H,m), 2.81 (2H,t,J=7.8), 6.54(1H,d,J=2.2), 7.62(1H,s), 8.00(1H,d, J=2.2), 9.29(1H,brs)
48	nBu		H	単 結 合	0	141~142 (エタノール-n-ヘキサン)
49			H	単 結 合	0	209~211 (塩化メチレン-酢酸エチル)
50			H	単 結 合	0	206~208 (塩化メチレン-酢酸エチル)
51	nBu		H	単 結 合	0	136~137 (エタノール-n-ヘキサン)
52	Me		H	単 結 合	0	173~175 (エタノール-n-ヘキサン)
53	nBu		Me	単 結 合	0	127~129 (エタノール-n-ヘキサン)
54	CH ₂ =CH-C ₂ H ₄ -		H	単 結 合	0	104~106 (酢酸エチル-n-ヘキサン)

【0101】

【表7】


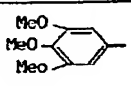

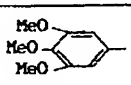
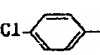
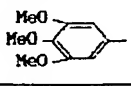

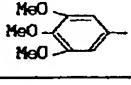

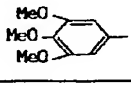

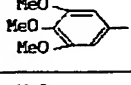

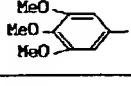
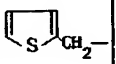
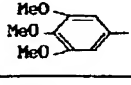
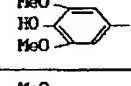
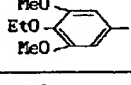
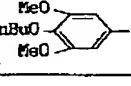
第 2 表 (続 き)

実施 例No.	R ¹	R ²	R ³	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
55	Et-O-CH ₂ -		H	単 結 合	0	138~140 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
56			H	単 結 合	0	163~165 (クロロホルム-酢酸エチル)
57			H	単 結 合	0	166~168 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
58			H	単 結 合	0	193~195 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)
59			H	単 結 合	0	174~176 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)
60			H	単 結 合	0	203~205 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)
61			H	単 結 合	0	175~177 (塩化メチレン-酢酸エチル)
62			H	単 結 合	0	192~194 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)
63			H	単 結 合	0	181~183 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)
64			H	単 結 合	0	224~226 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)
65			H	単 結 合	0	214~216 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)

【0102】

【表8】

第 2 表 (続 き)

実施 例No	R ¹	R ²	R ³	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
66			H	単 結 合	0	190~192 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)
67			H	単 結 合	0	222~224 (クロロホルム-酢酸エチル)
68			H	単 結 合	0	193~195 (クロロホルム-酢酸エチル)
69			H	単 結 合	0	189~191 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)
70			H	単 結 合	0	174~176 (塩化メチレン-酢酸エチル)
71			H	単 結 合	0	191~193 (塩化メチレン-ジエチルエーテル)
72			H	単 結 合	0	198~200 (塩化メチレン-酢酸エチル)
73			H	単 結 合	0	157~159 (酢酸エチル)
74	n Bu		H	単 結 合	0	159~161 (エタノール-n-ヘキサン)
75	n Bu		H	単 結 合	0	79~81 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
76	n Bu		H	単 結 合	0	98~100 (n-ヘキサン)

【0103】

【表9】

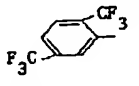
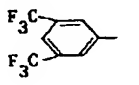
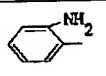
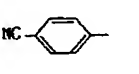


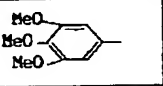
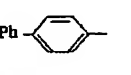
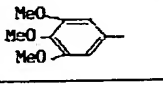
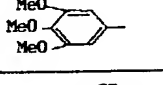

第 2 表 (続 き)

実施 例No	R ¹	R ²	R ³	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
77	nBu		H	単 結 合	0	82~85 (エタノール-n-ヘキサン)
78	nBu		H	単 結 合	0	158~160 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
79	nBu		H	単 結 合	0	182~184 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
80	nBu		H	単 結 合	0	132~135 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
81	nBu		H	単 結 合	0	111~113 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
82	Me		H	単 結 合	0	154~155 (エタノール-n-ヘキサン)
83	nPr		H	単 結 合	0	139~141 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
84			H	単 結 合	0	102~104 (n-ヘキサン)
85	nPe		H	単 結 合	0	93~95 (n-ヘキサン)
86	Ph		H	単 結 合	0	143~145 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)
87	nBu		H	単 結 合	0	46~48 (酢酸エチル-n-ヘキサン)

【0104】

【表10】


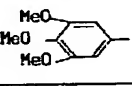
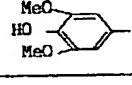
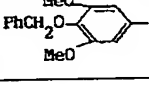
第 2 表 (続 き)

実施 例No	R ¹	R ²	R ³	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
88	n Bu		H	単 結 合	0	108~110 (n-ヘキサン)
89	n Bu		H	単 結 合	0	92.5~94.5 (n-ヘキサン)
90	n Bu		H	単 結 合	0	106~108 (n-ヘキサン)
91	n Bu		H	単 結 合	0	123~125 (エタノール-n-ヘキサン)
92	n Bu		H	単 結 合	0	123~125 (ジエチル-テール-n-ヘキサン)
93	n Bu		H	単 結 合	0	139~140 (エタノール-n-ヘキサン)
94	n Bu		H	CH ₂	0	121~123 (酢酸エチル-n-ヘキサン)
95	n Bu		H	-CH-CH-	0	194~196 (エタノール-n-ヘキサン)
96	n Bu		H	単 結 合	1	222 (分解) (エタノール-n-ヘキサン)
97	Ph		H	単 結 合	1	250 (分解) (メタノール-n-ヘキサン)
98	n Bu		H	単 結 合	1	247 (分解) (エタノール-n-ヘキサン)

【0105】

【表11】

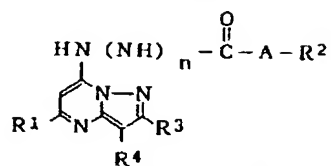
第 2 表 (続 き)

実施 例No	R ¹	R ²	R ³	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
99	Ph		H	単 結 合	1	263 (分解) (エタノール-n-ヘキサン)
100	$\text{CH}_3-\text{CH}(\text{OH})-\text{C}_2\text{H}_4-$		H	単 結 合	0	128~130 (塩化メチレン-n-ヘキサン)
101	$\text{CH}_3-\text{CH}(\text{OH})-\text{C}_2\text{H}_4-$		H	単 結 合	0	153~155 (エタノール-n-ヘキサン)
102	$\text{CH}_3-\text{CH}(\text{OH})-\text{C}_2\text{H}_4-$		H	単 結 合	0	127~129 (酢酸エチル-n-ヘキサン)

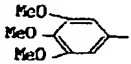
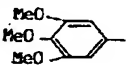
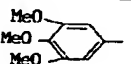

【0106】

【表12】

第 3 表



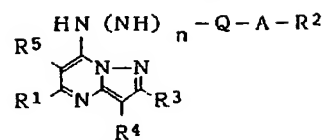
Me:メチル基、nBu:n-ブチル基、

実施 例No	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
103	nBu		Me	Cl	単結合	0	106~108 (エタノール-n-ヘキサン)
104	nBu		H	Cl	単結合	0	142~143 (エタノール-n-ヘキサン)
105	nBu		H	Br	単結合	0	146~148 (エタノール-n-ヘキサン)
106	nBu		H	Cl	単結合	0	133~135 (ジエチルエーテル-n-ヘキサン)

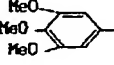
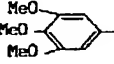

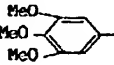
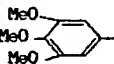
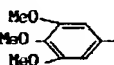
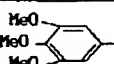
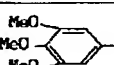

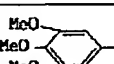
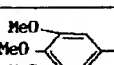
【0107】

【表13】

第 4 表



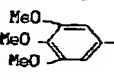
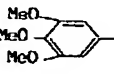
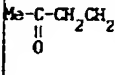
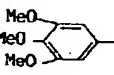
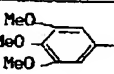
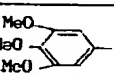

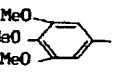

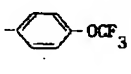
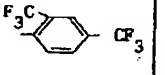


Me:メチル基、Et:エチル基、nBu:n-ブチル基、Ph:フェニル基

実施 例No	R ¹	R ⁵	R ²	R ³	R ⁴	Q	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
107	H	H		H	H	O C	単 結 合	0	185~187 (塩化メチレン- n-ヘキサン)
108	nBu	H		Me		O C	単 結 合	0	138~140 (酢酸エチル- n-ヘキサン)
109	nBu	H		nBu	H	O C	単 結 合	0	95~97 (酢酸エチル- n-ヘキサン)
110	nBu	H		nBu	Me	O C	単 結 合	0	96~98 (酢酸エチル- n-ヘキサン)
111	nBu	H		Ph	H	O C	単 結 合	0	190~192 (塩化メチレン- ジエチルエーテル)
112	nBu	H		Ph	PhCH ₂ -	O C	単 結 合	0	149~151 (酢酸エチル- n-ヘキサン)
113	nBu	H		Ph		O C	単 結 合	0	111~113 (酢酸エチル- n-ヘキサン)
114	nBu	H		H	nBu	O C	単 結 合	0	81~83 (n-ヘキサン)
115	nBu	H		H	Ph	O C	単 結 合	0	139~141 (酢酸エチル- n-ヘキサン)

【0108】

【表14】

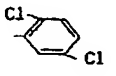
第 4 表 (続 き)

実施 例No	R ¹	R ⁵	R ²	R ³	R ⁴	Q	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
116	nBu	Me		H	H	O C	単 結 合	0	145~147 (塩化メチレン- n-ヘキサン)
117	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -			H	H	O C	単 結 合	0	102~104 (塩化メチレン- n-ヘキサン)
118		H		H	H	O C	単 結 合	0	115~117 (塩化メチレン- n-ヘキサン)
119	Et-S-CH ₂ -	H		H	H	O C	単 結 合	0	80~82 (酢酸エチル- n-ヘキサン)
120	MeS-CH ₂ CH ₂ -	H		H	H	O C	単 結 合	0	113~115 (塩化メチレン- ジエチルエーテル)
121	PhS- 	H		H	H	O C	単 結 合	0	179~181 (塩化メチレン- ジエチルエーテル)
122	nBu	H		H	H	O C	単 結 合	0	98~100 (ジエチルエーテル)
123	nBu	H		H	H	O C	単 結 合	0	73~75 (n-ヘキサン)
124	nBu	H		H	H	O C	単 結 合	0	129~131 (n-ヘキサン)
125	nBu	H		H	H	O C	単 結 合	0	91~93 (ジエチルエーテル n-ヘキサン)
126	nBu	H		H	H	O C	単 結 合	0	91~93 (n-ヘキサン)

【0109】

【表15】

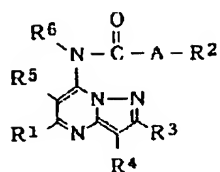
第 4 表 (続 き)

実施 例No	R ¹	R ⁵	R ²	R ³	R ⁴	Q	A	n	融 点 (°C) (再結晶溶媒)
127	nBu	H	Ph	H	H	SO ₂	単 結 合	0	300°C以上 (酢酸エチル- n-ヘキサン)
128	nBu	H		H	H	SO ₂	単 結 合	0	300°C以上 (酢酸エチル- n-ヘキサン)

【0110】

【表16】

第 5 表



Me: メチル基, nBu: n-ブチル基

実施例No	R ¹	R ⁵	R ²	R ³	R ⁴	R ⁶	A	融点 (°C) (再結晶溶媒)
129	nBu	H		H	H	Me	単結合	93~95 (酢酸エチル- n-ヘキサン)
130	nBu	H		H	H	Ph-CH ₂ -	単結合	¹ H-NMR(CDCl ₃) 0.76(3H, t, J=7.2), 0.9-1.1(2H, m), 1.3- 1.4(2H, m), 2.51(2H, t, J=7.4), 3.47(6H, s), 3.74(3H, s), 5.33(2H, brs), 5.83 (1H, s), 6.60(2H, s), 6.68(1H, d, J=2.0), 7.1-7.3(5H, m), 8.24(1H, d, J=2.0)
131	nBu	H		H	H		単結合	127~129 (酢酸エチル- n-ヘキサン)
132	nBu	H		H	H		単結合	119~121 (ジエチルエーテル- n-ヘキサン)
133	Me	H		H	H		単結合	180~182 (塩化メチレン- n-ヘキサン)
134	nBu	H		H	H		単結合	111~113 (ジエチルエーテル- n-ヘキサン)

【0111】

【表17】

第 6 表

供試化合物(実施例番号)	阻害率 (%)
7	74.6
15	66.9
16	44.7
18	58.0
19	83.0
23	43.1
26	62.3
52	64.7
53*	48.9
55	44.5
75	66.7
100	44.9
111**	32.2
115	57.2

*: 化合物濃度 = 10 μ M、

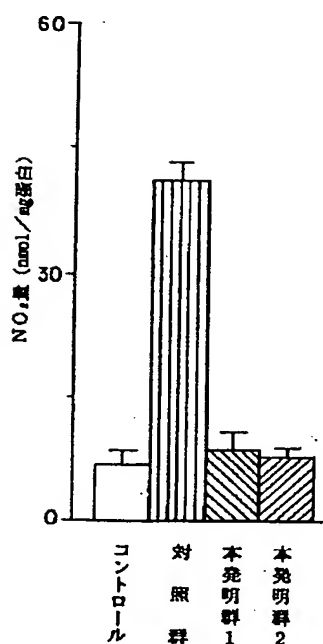
** : 化合物濃度 = 3 μ M、

【図面の簡単な説明】

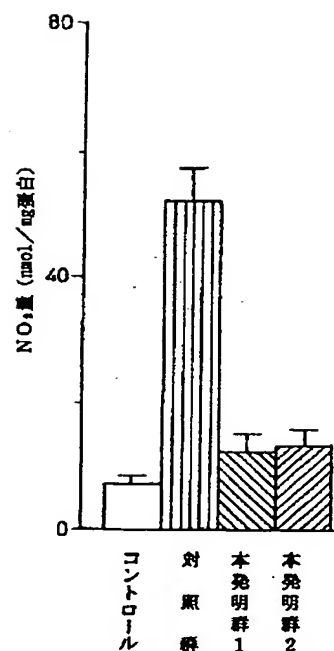
【図1】薬理試験例2に従い求められた本発明有効成分化合物のLPSによるiNOS誘導の阻害効果を示すグラフである。

【図2】薬理試験例2に従い求められた本発明有効成分化合物のIL-1 β によるiNOS誘導の阻害効果を示すグラフである。

【図1】



【図2】



THIS PAGE BLANK (USPTO)